

Beschreibung

Verfahren und Versorgungseinheit zur Überwachung von Veränderungen und Zuständen in Reaktionskammern

Technisches Umfeld

- [001] Untersuchungen an Zellkulturen werden in Reaktionskammern durchgeführt. Im Reaktionsraum können Zellen, Zellbestandteile, DNA, RNA, Enzyme, Antikörper und chemische Verbindungen überwacht und/oder zur Reaktion gebracht werden. Es sind Reaktionskammern bekannt, bei denen sich am Boden des Reaktionsraumes Sensorensysteme unterschiedlicher Art befinden.
- [002] Die Erfindung bezieht sich auf ein Verfahren zur Überwachung von Veränderungen und Zuständen in Reaktionskammern und eine Versorgungseinheit, welche bei Untersuchungen an Zellkulturen für die Einbringung eines flüssigen Kulturmediums benötigt wird.
- [003] Bekannte Vorrichtungen dienen dazu, in einer bestimmten zeitlichen Abfolge den Zellen frisches Kulturmedium oder ein in diesem Kulturmedium gelösten Wirkstoff zuzuführen beziehungsweise verbrauchtes Medium aus dem Zellkulturbereich zu entfernen. Das zugeführte Medium und der Zellkulturbereich müssen vor Kontamination durch Mikroorganismen und vor übermäßiger Verdunstung geschützt sein. Dies sind wichtige Voraussetzungen für die sensitive Messung zellulärer Reaktionen.
- [004] In der DE 19920811 wird eine Vorrichtung zur Durchführung von Untersuchungen an Zellkulturen, die sich in einem flüssigen Kulturmedium befinden, beschrieben. Es ist ein Trennkörper vorgesehen, welcher der auf einer Aufnahme befindlichen Zellkultur annäherbar ist und oberseitig des Kulturmediums einen Reaktionsraum begrenzt. Innerhalb des Trennkörpers sind ein oder mehrere Durchtrittskanäle vorgesehen, die in den kleinvolumigen Teilraum des Aufnahmebehältnisses münden. Das konvektive Vermischen des im Reaktionsraum und im Reservoirraum befindlichen Mediums erfolgt, indem über den Durchtrittskanal ein bestimmtes Flüssigkeitsquantum an Kulturmedium dem Reaktionsraum zugeführt und wieder abgesaugt wird. Die konvektive Vermischung erfolgt über dem Strömungskanal zwischen Trennkörper und Aufnahmebehältnis. An der Unterseite des Trennkörpers befindet sich eine Profilierung mit konvexer Wölbung, wodurch Luft- bzw. Gasblasen entweichen können.
- [005] Flüssigkeiten können je nach Umgebungsbedingungen Gase speichern oder abgeben (Gasaustausch mit der Umgebung) wobei immer der Sättigungszustand angestrebt wird. So kann es u.a. in Abhängigkeit von Temperatur und Druck zu erheblichen Gaseinlagerungen kommen. Bei Entspannung und Temperaturerhöhung wird

ein Teil des Gases wieder an die Umgebung abgegeben was zu Blasenbildung führen kann. In geschlossenen Systemen können diese Blasen transportiert werden und zu Störungen von chemischen-, physikalischen- und biologischen Abläufen, Messergebnissen bzw. des Messumfeldes (z.B. Schäden am Zellteppich oder innerhalb eines Reaktionsraumes, Verhindern von chemischen Reaktionen an Oberflächen durch Anlagern von Luftblasen) führen.

[006] Nachteil des Standes der Technik ist es, dass Gasblasen entstehen können, welche die Zellkultur bzw. die Messung durch die Sensoren beeinträchtigen.

[007] Zur Vermeidung bzw. Verringerung von Störungen durch Luftblasen sind verschiedene Verfahren und Geräte bekannt.

[008] Ein Teil dieser Systeme (Vakuum, Erwärmung, Ultraschall, ...) kann die Flüssigkeit teil- oder nahezu vollständig entgasen. Hier muss jedoch darauf geachtet werden, dass beim Weitertransport der Flüssigkeiten keine erneute Gasaufnahme erfolgen kann (gasundurchlässige Transportbehälter/ Rohre/ Schläuche). Weiterhin kann es durch die Entgasung zu Veränderungen der Eigenschaften der Flüssigkeit (z.B. denaturieren von Proteinen durch Erwärmung) bzw. zu Beeinflussungen an den Sensoren kommen. Aus diesen Gründen sind die beschriebenen Entgasungsverfahren für Anwendungen, die auf halb-offenen Systemen beruhen, mit lebenden (z.B. sauerstoffzehrenden) Zellen arbeiten und/oder keine Manipulation der Flüssigkeit erlauben, nicht geeignet.

[009] Weitere Verfahren zur Luftblasenunterdrückung sind z.B. sogenannte Luftblasenfallen im Schlauchsystem. Luft-/Gasblasen steigen in einem dafür vorgesehen Bereich auf und werden im „Abfluss“ nicht weitertransportiert. Nachteil dieses Verfahrens ist das zusätzliche Totvolumen (Zeitverzögerung/Durchmischung beim Medienwechsel) und die ggf. notwendige Abgasungsstelle, die Kontakt mit der Umwelt herstellt (z.B. Kontamination möglich). Weiterhin kann das System nur Luftblasen entfernen, die sich im Schlauch vor der Falle (in Pumprichtung) befinden. Weitere Luftblasenbildung im nachfolgenden Schlauch-/Leitungssystem ist nicht ausgeschlossen.

Offenbarung der Erfindung

Technisches Problem

[010] Aufgabe der Erfindung ist es, eine luftblasenfreie Messung in Reaktionskammern zur Überwachung von Veränderungen und Zuständen in Reaktionskammern zu ermöglichen. Auf eine Entgasung soll ganz verzichtet werden.

Technische Lösung

[011] Erfindungsgemäß wird die Aufgabe durch die Patentansprüche 1 bis 16 gelöst.

[012] Das Verfahren zur Überwachung von Veränderungen und Zuständen in Reakti-

onskammern ist dadurch gekennzeichnet, dass ein Fluid aus einem Vorratbehälter abgezogen oder abgepumpt und zu einer Versorgungseinheit transportiert wird. Das Fluid tropft oder fließt über einen zweiten Durchtrittskanal (Einlasskanal) in einen Tropfraum, so dass Luftblasen, die mit dem Fluid transportiert werden, an der Fluidgrenze bleiben oder sofort in die Umgebung entweichen. Sie können somit nicht in den Reaktionsraum gelangen. Oberhalb eines Kopfes und eines Reaktionsraums bildet das Fluid einen Vorrat. Die Höhe der Fluidgrenze und somit das Vorratsvolumen wird mit Hilfe eines ersten Durchtrittskanals (Absaugkanal) bestimmt und ein Fluidaustausch erfolgt im Reaktionsraum durch die Absaugung über den Absaugkanal und das dadurch hervorgerufene Nachfließen des Fluids aus dem Tropfraum.

- [013] In einem Ausführungsbeispiel wird die Höhe der Fluidgrenze und somit das Vorratsvolumen mit Hilfe eines dritten Durchtrittskanals (Notabsaugkanal) bestimmt.
- [014] Die Veränderung des Fluids oder einer Oberfläche im Reaktionsraum wird durch lebende Zellen und/oder chemische, biochemische und/oder immunologische Reaktionen ausgelöst, wobei die Fluid-Ver- und -Entsorgung gleichzeitig oder nacheinander abläuft.
- [015] Der Reaktionsraum ist durch einen Hebemechanismus des Kopfträgers veränderbar. Das Fluid im Tropfraum wird dadurch mit dem Fluid im Reaktionsraum vermischt. In einem Ausführungsbeispiel wird die Flüssigkeit im Tropfraum (durch das Absaugen der Flüssigkeit aus dem Reaktionsraum) in den Reaktionsraum hineingezogen.
- [016] Im Reaktionsraum ist eine Membran derart angeordnet, dass Teile des Reaktionsraumes von einer direkten Anströmung durch das Fluid ausgeschlossen sind.
- [017] Bei der erfindungsgemäßen Versorgungseinheit zur Überwachung von Veränderungen und Zuständen in Reaktionskammern dient ein in den Reaktionsraum mündender erster Durchtrittskanal als Absaugung für ein Fluid. Der Einlass des Fluids erfolgt über einen zweiten Durchtrittskanal oberhalb der Fluidgrenze.
- [018] Im Reaktionsraum und/oder im ersten Durchtrittskanal sind Sensorsysteme zur Detektion der Veränderung im Fluid angeordnet.
- [019] In einem Ausführungsbeispiel besteht der Kopfträger aus einem Kopf mit einem stiel förmigen Schaft und einer Verdickung für die Aufnahme des zweiten Durchtrittskanals.
- [020] In einem weiteren Ausführungsbeispiel befindet sich oberhalb der Verdickung und innerhalb des Aufnahmebehälters eine weitere Verdickung für die Aufnahme eines dritten Durchtrittskanals, der als Notabsaugung einen Überlauf verhindert.
- [021] Eine weitere Ausführung zeigt, dass der zweite Durchtrittskanal für die Zuleitung des Fluids neben dem Kopfträger angeordnet ist. Der erste Durchtrittskanal befindet sich im Boden des Reaktionsraumes.
- [022] Die Oberfläche der Versorgungseinheit ist mit einer hydrophoben und/oder hy-

drophilen Beschichtung versehen.

[023] Durch diese konstruktiv optimierte Versorgungseinheit, welche für die Versorgung mit frischem und die Entsorgung von verbrauchten Reaktionskomponenten sorgt, und einer neuen Fluidführung sind Entgaser bzw. Blasenfallen unnötig.

[024] Blasen werden direkt am Durchflussskopf in unmittelbarer Nähe zum Reaktionsraum abgefangen und am Transport zum Reaktionsraum gehindert, wobei die physikalischen, chemischen und biologischen Eigenschaften des Fluids unverändert bleiben.

Kurze Beschreibung von Zeichnungen

[025] Die Ausführungsbeispiele werden anhand der Zeichnungen erläutert.

[026] Figur 1 - erfindungsgemäße Versorgungseinheit mit Absaugung und Einlass

[027] Figur 2 - erfindungsgemäße Versorgungseinheit mit Absaugung, Einlass und Notabsaugung

[028] Figur 3 - erfindungsgemäße Versorgungseinheit in einer weiteren Ausführung

[029] In Figur 1 wird die erfindungsgemäße Versorgungseinheit dargestellt. In einen Aufnahmebehälter 10 befindet sich ein Kopfräger 1, der den Reaktionsraum 2 begrenzt. Im Reaktionsraum 2 können Zellen, Zellbestandteile, DNA, RNA, Enzyme, Antikörper und chemische Verbindungen überwacht und/oder zur Reaktion gebracht werden. Am Boden des Reaktionsraumes 2 und/oder im ersten Durchtrittskanal 5 können sich Sensorsysteme 13 unterschiedlicher Art befinden. Das können z.B. elektrische, optische und/oder akustische Sensoren sein. Eine Membran 14 im Reaktionsraum 2 kann z.B. Suspensionszellen oder andere bewegliche Reaktionskomponenten im Reaktionsraum 2 zurückhalten oder eine direkte Anströmung (Scherkräfte) von adhärent wachsenden Zellen oder Reaktionskomponenten an Oberflächen verhindern.

[030] In Figur 2 wird dargestellt, wie durch den erfindungsgemäßen Kopfräger 1 mit dem ersten Durchtrittskanal 5 als Absaugung, dem zweiten Durchtrittskanal 6 als Einlass und dem dritten Durchtrittskanal 11 als Notabsaugung ein Überlaufen verhindert werden kann.

[031] Der Kopfräger 1 hat einen Kopf 7 mit sich anschließendem stiel förmigen Schaft 8. Ein in den Reaktionsraum 2 mündender erster Durchtrittskanal 5 dient als Absaugung für ein Fluid 3. Der Einlass erfolgt über einen zweiten Durchtrittskanal 6 in einen Tropfraum oberhalb der Fluidgrenze 4. Dieser zweite Durchtrittskanal 6 befindet sich in einer zum stiel förmigen Schaft 8 beispielsweise halbkegelförmig abgeschrägten Verdickung 9. Durch diese Anordnung ist es möglich, dass im Reaktionsraum 2 keine ungewollten Blasen bzw. Gase entstehen.

[032] Über den zweiten Durchtrittskanal 6 wird aus einem Vorratsbehälter über ein Schlauch- und/oder Rohrsystem ein bestimmtes Flüssigkeitsquantum an Kulturmedium dem bereits vorhandenen Fluid 3 zugeführt. Das Fluid 3 tropft oder fließt über den

zweiten Durchtrittskanal 6 in den Tropfraum. Luftblasen bleiben an der Fluidgrenze 4 oder entweichen sofort in die Umgebung. Über den ersten Durchtrittskanal 5 wird das Fluid aus dem Reaktionsraum 2 abgesaugt. So gelangt stets unverbrauchtes blasenfreies Kulturmedium in den Reaktionsraum 2, indem das Fluid 3 aus dem Vorrat im Tropfraum nachströmt. Das Fluid 3 im Tropfraum wird durch das Absaugen der Flüssigkeit aus dem Reaktionsraum 2 in den Reaktionsraum 2 hineingezogen. Die Höhe der Fluidgrenze 4 und somit das Vorratsvolumen wird mit Hilfe des ersten Durchtrittskanals 5 bestimmt.

[033] Die Höhe der Fluidgrenze 4 kann auch mit Hilfe des dritten Durchtrittskanals 11 als Notabsaugkanal bestimmt werden.

[034] In Figur 3 wird eine weitere Ausführung der Anordnungen für den ersten und zweiten Durchtrittskanal 5, 6 gezeigt. Hierbei ist der zweite Durchtrittskanal 6 für die Zuleitung des Fluids neben dem Kopfträger 1 und der erste Durchtrittskanal 5 im Boden des Reaktionsraumes 2 angeordnet. Theoretisch sind auch andere, äquivalente Anordnungen möglich.

[035] Wird der Reaktionsraum 2 durch einen Hebemechanismus des Kopfträgers 1 verändert, vermischt sich das Fluid 3 im Tropfraum mit dem Fluid im Reaktionsraum 2.

[036] Wird die Oberfläche des Kopfträgers 1 und/oder des Aufnahmebehälters 10 mit einer hydrophoben und/oder hydrophilen Beschichtung versehen, werden die Eigenschaften der Fluide an den Oberflächen so beeinflusst, dass Luftblasen in den Fluiden einfacher entweichen können und Blasen direkt am Durchflussskopf in unmittelbarer Nähe zum Reaktionsraum 2 abgefangen und am Transport zum Reaktionsraum 2 gehindert werden.

[037] Mögliche Abmessungen der einzelnen Komponenten sind folgende:

[038] Höhe des Reaktionsraumes 200-500 μm

Höhe des Tropfraumes 0,5-3 mm

Höhe der Fluidgrenze 1-5 mm

Öffnungsdurchmesser der Durchtrittskanäle 0,5-1 mm

[039] Die Vorteile des neuen Systems sind zum Einen der einfache Aufbau und zum Anderen, dass keine Veränderung am Medium (Flüssigkeit) erfolgt, da der Gasanteil im Fluid nicht geändert wird (Entgaser (Wärme, Vakuum)). Es erfolgt keine Ultraschallentgasung oder Erwärmung. Die Zellen können ausreichend mit Gasen (z.B. O_2) versorgt werden.

[040] Ebenso können auf Grund blasenfreier und elektrisch sicher gekoppelter Absaugung eine ggf. für die Messung notwendige Referenzelektrode oder andere externe Sensoren so platziert werden, dass sie selbst bzw. ihr Elektrolyt keinen ungewollten Einfluss auf die Messung haben.

[041] Ein weiterer Vorteil ist, dass der Reaktionsraum minimiert werden kann, der Platz zum „Durchschleusen“ von Luftblasen ist nicht mehr nötig. Ebenso werden durch die Verkleinerung des Reaktionsraumes Veränderungen des Fluids aufgrund von Oberflächenreaktionen detektierbar sowie kleinere Volumina an Testsubstanzen/Testmaterialien ermöglicht.

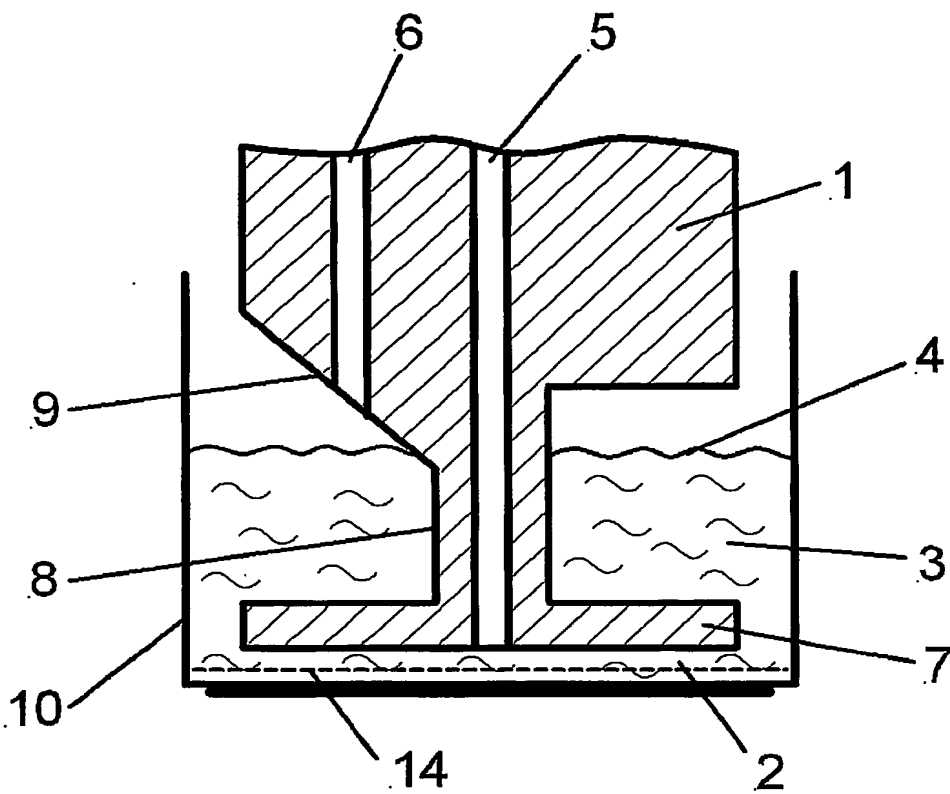
Ansprüche

- [001] Verfahren zur Überwachung von Veränderungen und Zuständen in Reaktionskammern dadurch gekennzeichnet, dass ein Fluid aus einem Vorratsbehälter zu einer Versorgungseinheit transportiert wird und in einen Tropfraum tropft oder fließt, so dass Luftblasen, die mit dem Fluid transportiert werden, in die Umgebung entweichen, und dass das Fluid oberhalb eines Kopfes (7) und eines Reaktionsraums (2) einen Vorrat bildet, wobei die Höhe der Fluidgrenze (4) und somit das Vorratsvolumen mit Hilfe eines ersten Durchtrittskanals (5) bestimmt wird und ein Fluidaustausch im Reaktionsraum durch die Absaugung über den ersten Durchtrittskanal (5) und das dadurch hervorgerufene Nachfließen des Fluids aus dem Tropfraum erfolgt.
- [002] Verfahren nach Anspruch 1 dadurch gekennzeichnet, dass der Transport des Fluids in den Tropfraum über einen zweiten Durchtrittskanal (6) erfolgt.
- [003] Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 2 dadurch gekennzeichnet, dass die Höhe der Fluidgrenze (4) und somit das Vorratsvolumen mit Hilfe eines dritten Durchtrittskanals (11) bestimmt wird.
- [004] Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3 dadurch gekennzeichnet, dass eine Veränderung des Fluids (3) oder einer Oberfläche im Reaktionsraum (2) durch lebende Zellen, Zellbestandteile, DNA, RNA, Enzyme, Antikörper und/oder chemische, biochemische und/oder immunologische Reaktionen ausgelöst wird.
- [005] Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4 dadurch gekennzeichnet, dass eine Durchströmung der Flüssigkeit durch den Reaktionsraum (2) kontinuierlich oder abwechselnd in Fluss- oder Stopphasen erfolgt.
- [006] Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 5 dadurch gekennzeichnet, dass der Reaktionsraum (2) durch einen Hebemechanismus des Kopfträgers (1) veränderbar ist, so dass das Fluid im Tropfraum mit dem Fluid im Reaktionsraum (2) vermischt wird.
- [007] Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 6 dadurch gekennzeichnet, dass eine Membran (14) im Reaktionsraum (2) derart angeordnet ist, sodass Teile des Reaktionsraumes (2) von einer direkten Anströmung durch das Fluid ausgeschlossen sind.
- [008] Versorgungseinheit zur Überwachung von Veränderungen und Zuständen in Reaktionskammern dadurch gekennzeichnet, dass ein in den Reaktionsraum (2) mündender erster Durchtrittskanal (5) als Absaugung für ein Fluid (3) dient und der Einlass über einen zweiten Durch-

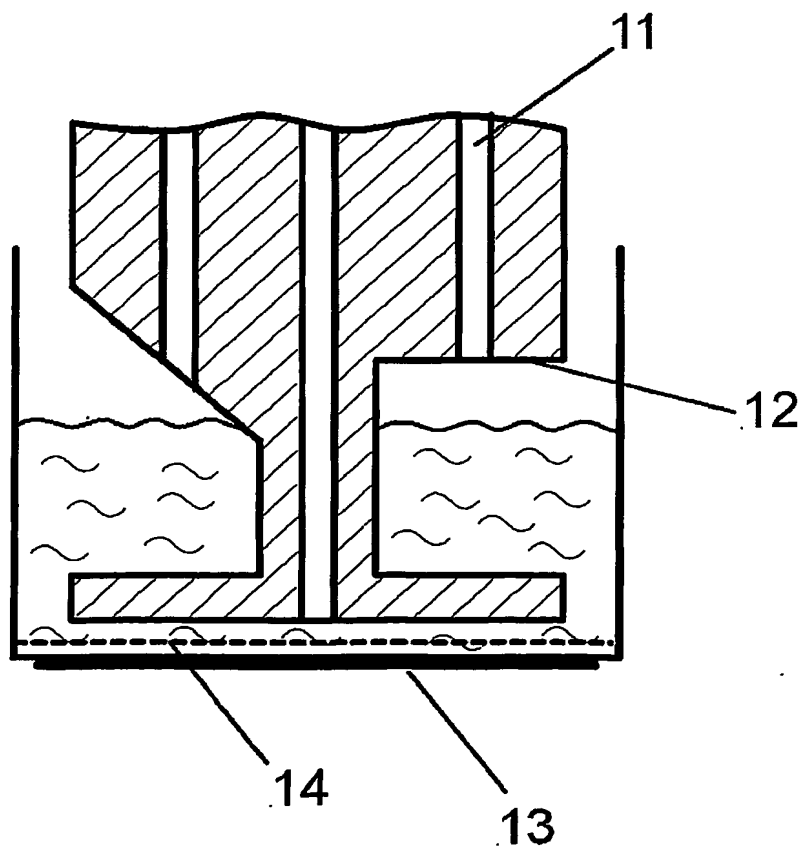
- trittskanal (6) oberhalb der Fluidgrenze (4) in einen Tropfraum erfolgt.
- [009] Versorgungseinheit nach Anspruch 8 dadurch gekennzeichnet, dass der erste Durchtrittskanal (5) innerhalb des Kopfträgers (1) angeordnet ist und in den Reaktionsraum (2) mündet.
- [010] Versorgungseinheit nach Anspruch 8 dadurch gekennzeichnet, dass der erste Durchtrittskanal (5) im Boden des Reaktionsraumes (2) angeordnet ist.
- [011] Versorgungseinheit nach einem der Ansprüche 8 bis 10 dadurch gekennzeichnet, dass der Kopfträger (1) aus einem Kopf (7) mit einem stielförmigen Schaft (8) und einer Verdickung (9) für die Aufnahme des zweiten Durchtrittskanals (6) besteht.
- [012] Versorgungseinheit nach einem der Ansprüche 8 bis 10 dadurch gekennzeichnet, dass der zweite Durchtrittskanal (6) für die Zuleitung des Fluids neben dem Kopfträger (1) angeordnet ist.
- [013] Versorgungseinheit nach einem der Ansprüche 8 bis 12 dadurch gekennzeichnet, dass ein dritter Durchtrittskanal (11) innerhalb des Aufnahmebehälters (10) so angeordnet ist, dass er als Notabsaugung einen Überlauf verhindert.
- [014] Versorgungseinheit nach einem der Ansprüche 8 bis 13 dadurch gekennzeichnet, dass oberhalb der Verdickung (9) und innerhalb des Aufnahmebehälters (10) eine zweite Verdickung (12) für die Aufnahme eines dritten Durchtrittskanals (11) angeordnet ist, der als Notabsaugung einen Überlauf verhindert.
- [015] Versorgungseinheit nach einem der Ansprüche 8 bis 14 dadurch gekennzeichnet, dass die Oberfläche mit einer hydrophoben und/oder hydrophilen Beschichtung versehen ist.
- [016] Versorgungseinheit nach einem der Ansprüche 8 bis 15 dadurch gekennzeichnet, dass im Reaktionsraum (2) und/oder im ersten Durchtrittskanal (5) oder nachfolgend Sensorsysteme (13) zur Detektion der Veränderung im Fluid angeordnet sind.

1/2

[Fig. 001]



[Fig. 002]



[Fig. 003]

